

CYTED

RED IBEROAMERICANA DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS BASADOS EN COMPUESTOS METÁLICOS (RIIDFCM)

Dra. Q.F. M.H.Torre
Química Inorgánica (DEC), Facultad de Química, UDELAR
Montevideo, Uruguay

Nuestra Experiencia

Estudio de complejos metálicos con ligandos que poseen actividad farmacológica *per se*

- Antibacterianos
- Antitumorales
- Betabloqueantes

Nuestra Experiencia

Estudio de complejos metálicos con ligandos que no poseen actividad farmacológica *per se*

Complejos con ligandos aminoácidos, oligopéptidos, nucleobases y otros

- Antitumorales
- Suplementos metálicos (Cu en vacunos)
- Suplemento de no metales (Se en pacientes con SIRS/DOM)

Metodología

1. Síntesis
2. Caracterización
3. Estabilidad
4. Estudios bioquímicos
5. Estudios biológicos
6. Propiedades fisicoq.

- A.E. y termog.
- I.R., Raman, Masa
- EPR, DC, UV-Vis, conductividad
- SOD
- In vitro*
- Ex-vivo*
- In vivo*

Estudio de complejos metálicos con potencial actividad antibacteriana

Estudiamos:

Cu(II), Co(II), Ni(II)-sulfonamidas

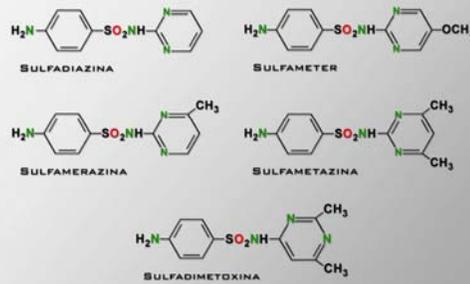
Fe(III)-derivados de *N*¹,*N*⁴-dióxido quinoxalinas

Estudiamos:

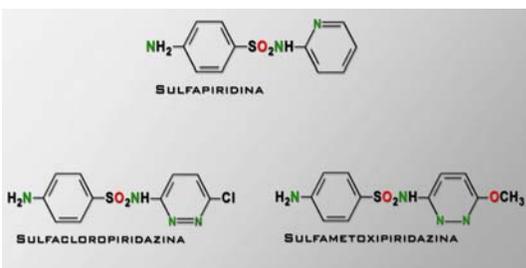
Cu(II), Co(II), Ni(II)-sulfonamidas

Fe(III)-derivados de N^1, N^4 -dioxido quinoxalinas

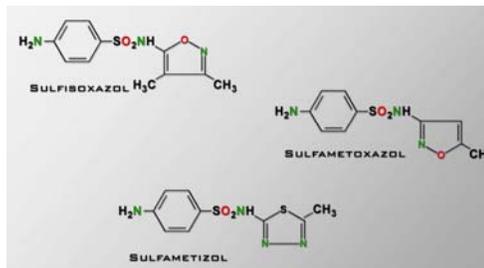
Sulfonamidas con grupo pirimidina



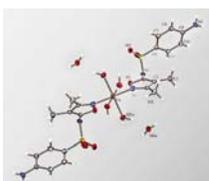
Sulfonamidas con grupo piridina y piridazina



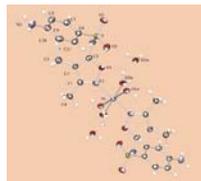
Sulfonamidas con grupo isoxazol y diazometizol



$[M(\text{sulfonamida})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



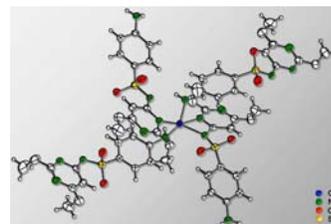
M.Torre et al., J. Inorg. Biochem., 100,1167, 2006



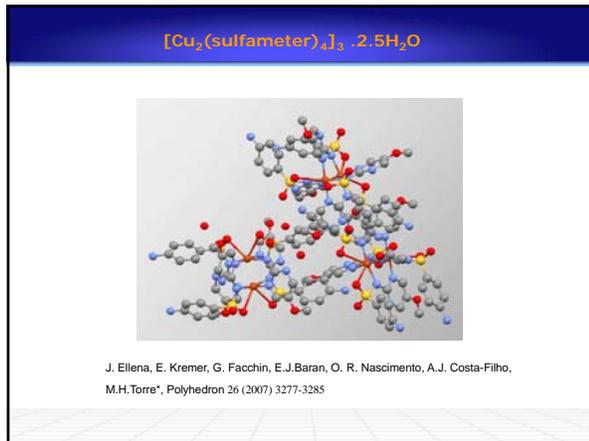
M.Torre et al, J. Inorg. Biochem. 102 (2008) 285



$\text{Cu}_2(\text{sulfadimetoxina})_2 \text{DMSO}$



M.H.Torre, G.Facchin, E.Kremer, E.Castellano, O.Piro, E.J.Baran, J. Inorg. Biochem. 94(2003)200



Actividad antibacteriana: MIC(µg/mL)

Heterociclo	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Pirimidina	Sulfameter [Cu ₂ (sulfameter) ₂] ₃ · 2.5H ₂ O	16 32	>128 > 128
	Sulfadiazina [Cu(sulfadiazina) ₂] ₂ · H ₂ O	32 >128	8 >128
	Sulfamerazina [Cu(sulfamerazina) ₂] ₂ · H ₂ O	32 >128	32 128
	Sulfametazina [Cu(sulfametazina) ₂] ₂ · H ₂ O	32 32	128 128
	Sulfadimetoxina [Cu(sulfadimetoxina) ₂] ₂ · H ₂ O	16 16	>128 >128

Actividad antibacteriana: MIC(µg/mL)

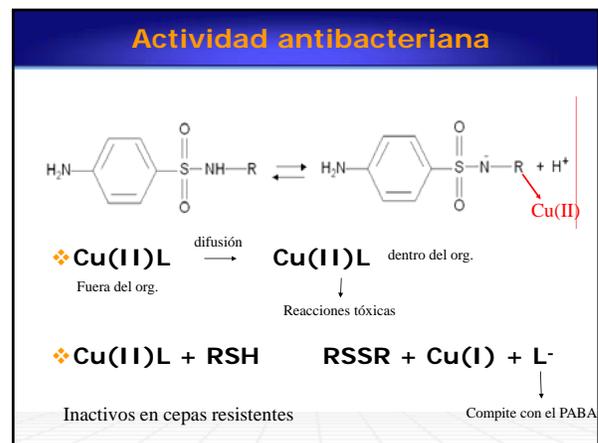
Heterociclo	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Piridina	Sulfapiridina [Cu(sulfapiridina) ₂] ₂ · H ₂ O	>128 >128	>128 >128
	Sulfasalazina [Cu(sulfasalazina) ₂] ₂ · 2H ₂ O	>400 >400	>400 >400

Actividad antibacteriana: MIC(µg/mL)

Het.	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
piridazina	Smetoxipiridazina [Cu(Smetoxipiridazina) ₂] ₂ · H ₂ O	8 8	32 32
	Sulfaquinoxalina [Cu(sulfaquinoxalina) ₂] ₂ · 4H ₂ O	64 64	64 256
tiazol	Succinilsulfatiazol [Cu(succinilsulfatiazol) ₂] ₂ · 8H ₂ O	>400 >400	>400 >400

Actividad antibacteriana: MIC(µg/mL)

Het.	Ag. antimicrobiano	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Isoxazol	Sulfisoxazol [Cu(sulfisoxazol) ₂ (H ₂ O) ₄] ₂ · 2H ₂ O	>128 128	>128 128
	Sulfametoxazol [Cu(sulfametoxazol) ₂ (H ₂ O) ₄] ₂ · 3H ₂ O	16 4	128 32
	[Cu(sulfametoxazol) ₂] ₂ · H ₂ O	16	16
Diazometizol	Sulfametizol Cu(sulfametizol) ₂ · H ₂ O	64 32	64 32
	Pirazol	Sulfafenazol [Cu(sulfafenazol) ₂] ₂ · 8H ₂ O	80 80



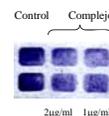
Actividad SOD-mimética

Complejo	IC ₅₀ (µM)
[Cu(sulfadiazine) ₂]-H ₂ O	66
[Cu ₂ (sulfameter) ₄]-2.5H ₂ O	41*
[Cu(sulfamethazine) ₂]-H ₂ O	98
[Cu(sulfamethoxypyridazine) ₂]-H ₂ O	52
[Cu(sulfamethoxazole) ₂ -(H ₂ O) ₄]-3H ₂ O	42*
SOD nativa	0.04

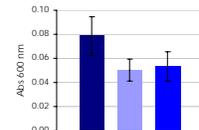
*Actividad SOD similar a la de complejos farmacológicamente activos, asociados con la dismutación del radical superóxido.

Estudios celulares en cultivos de MDCK

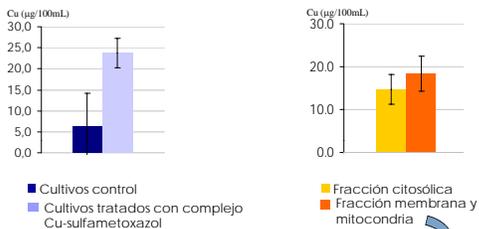
Técnica 1: Tratadas con y sin complejo Cu-sulfametoxazol (en DMSO) y revelado con NBT incubado por 4 hs.



Técnica 2: Solubilización del NBT reducido con KOH y DMSO. Lectura en lector de micro ELISA con filtro de 600 nm.



Medición de Cu en los diferentes compartimentos celulares



Western Blott

Inmunodetección de la Na-K-ATPasa en la fracción conteniendo membrana plasmática y mitocondrias.

Estudios *in vitro* de permeación y retención cutánea

- ❖ Formación de microparticulas (PLGA)
- ❖ Estudios de permeación usando celdas de difusión
- ❖ Estudios de retención cutánea usando la técnica de "tape stripping"



Veremos:

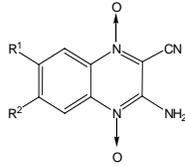
Cu(II)-sulfonamidas

Fe(II) o Fe(III)-derivados de N¹,N⁴-dioxido quinoxalinas

Fe y quinoxalinas: por qué?

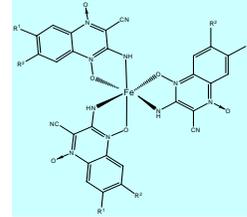
- ❖ Fe está relacionado con el metabolismo del *M. tuberculosis*
- ❖ [Fe(CN)₅(isoniazida)]³⁻ actividad mayor que la isoniazida
- ❖ N¹, N⁴ dioxo quinoxalinas son bio-reducibles formando productos tóxicos
Quinox. → Quinox. Red 1 → Quinox. Red 2 → Prod. tóxicos
- ❖ Publicaciones: antitumorales (J. Inorg. Biochem. 102 (1) (2008), 119-126); antitripanosoma (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 17(4)(2009); antitumorales (J. Inorg. Biochem., 100 (8) 1358-1367, 2006.)

N1, N4 dioxido quinoxalinas



Ligandos	R ¹	R ²
H10	H	H
B10	CH3	H
GA10	OCH3	Cl
X10	CF3	H

Estructura propuesta



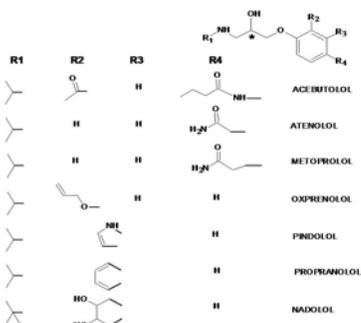
Fe(III)-quinoxalinas

Complejos metálicos con actividad betabloqueante

Antecedentes

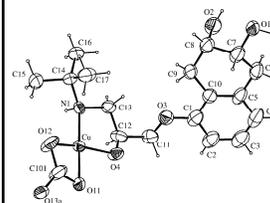
- ❖ Los beta bloqueantes son usados para varias enfermedades cardiovasculares (hipertensión, arritmias y protección del miocardio después de infartos)
- ❖ En algunos casos la actividad sobre la frecuencia y sobre la fuerza cardíaca complica la terapia
- ❖ Se buscan nuevos fármacos que separen la actividad cronotrópica de la inotrópica
- ❖ Hay poco reportado

Beta-bloqueantes

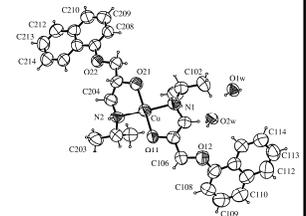


Estructuras obtenidas

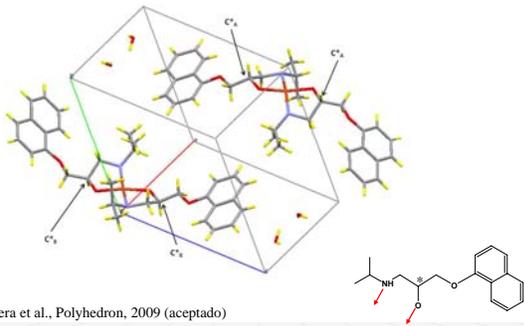
Na[Cu(nadolol)(CO3)]. H2O



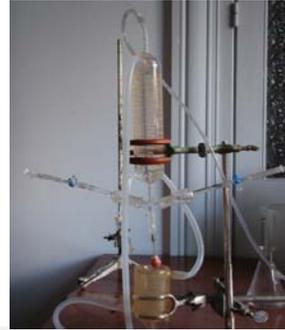
[Cu(propranolol)₂]. 2 H₂O



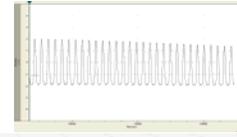
[Cu(R-propranololato)₂][Cu(S-propranololato)₂·4H₂O



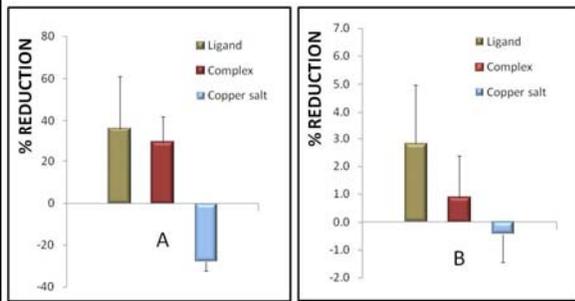
Técnica de Langendorff



- ❖ Corazones de cobayos (400-600 g)
- ❖ T = 36 ± 1 °C
- ❖ Solución de Tyrode
- ❖ Velocidad de flujo: 6 mL/min
- ❖ Controles: bolus de Tyrode, DMSO y sal de cobre

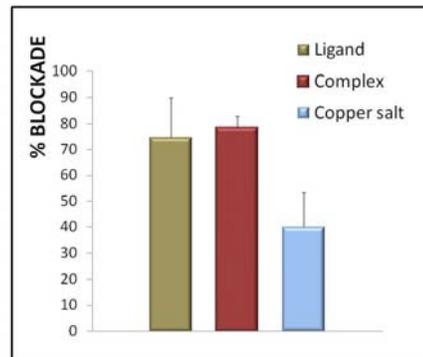


Efecto de un bolus en la fuerza de contracción del miocardio (A) y de la frecuencia (B)

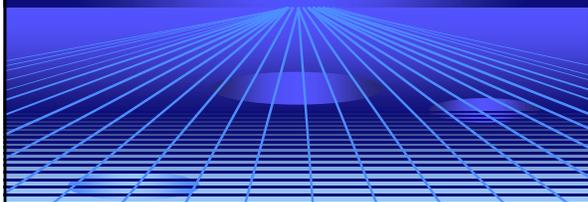


[Cu(propranolol)₂].2H₂O (0.5 x 10⁻³M), propranolol (10⁻³ M) y CuSO₄ (0.5 x 10⁻³M)

Porcentaje de bloqueo de la adrenalina medido como la variación de fuerza de contracción del miocardio



Complejos de Cu-AA como suplementos



"Síndrome de crecimiento" en vacas, un problema geomédico en Uruguay

- ❖ Anemia
- ❖ Bajo peso
- ❖ Deformidad ósea
- ❖ Diarrea
- ❖ Baja producción láctea
- ❖ Infertilidad
- ❖ Despigmntación
- ❖ Infecciones



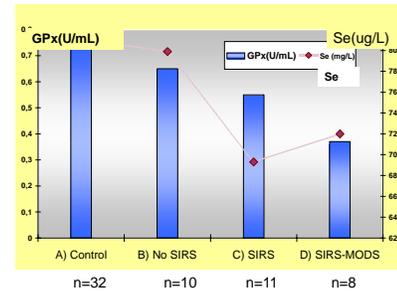
Proyecto

❖ **Objetivo:** Buscar nuevas estrategias terapéuticas, sin oponerse a la terapéutica convencional, que contribuyan a mejorar el pronóstico de estas graves entidades.

❖ **Etapas:**

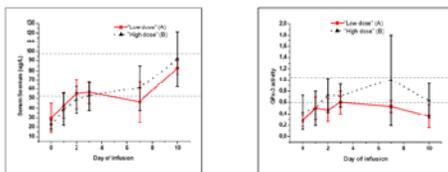
- Evaluar el estado de Se en población normal y en pacientes críticos con y sin SIRS.
- Suplementar los pacientes con SIRS/DOM con ácido selenioso y selenito de sodio y ver si disminuye la mortalidad a los 28 días.

Selenemias y actividad GPx promedio



W. Manzanares et al., Intensive Care Med.(2009) 35, 882

Suplementación con ácido selenioso



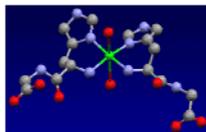
Baja dosis=15,2 $\mu\text{mol}/2\text{h}$ (bolus) y 10,12 $\mu\text{mol}/\text{d}$ (perfusión continua)

Alta dosis=25,3 $\mu\text{mol}/2\text{h}$ (bolus) y 20,24 $\mu\text{mol}/\text{d}$ (perfusión continua)

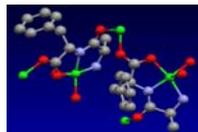
W. Manzanares et al., Nutrition (en prensa)

Complejos de Cu-AA, Cu-dipéptidos

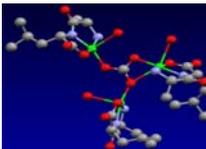
Cu-dipeptidos



[Cu(HisGly)₂(H₂O)₂]
Inorg. Chim. Acta 355(2003) 408



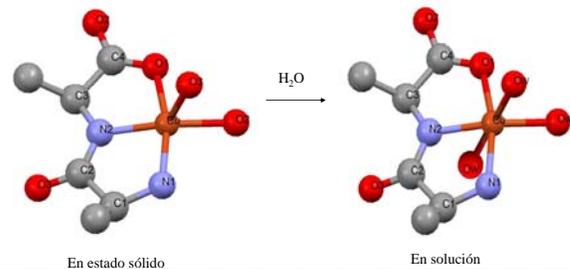
[Cu(Ala-Phe)]·1/2H₂O
Inorg. Chim. Acta 355(2003) 408
Inorg. Chem., 3, 45 (7)(2006)2942
J. Mol. Struct., 797(2006)179



[Cu₃(Ala-Leu)₃(H₂O)₃CO₃]·PF₆·H₂O

Datos estructurales en solución

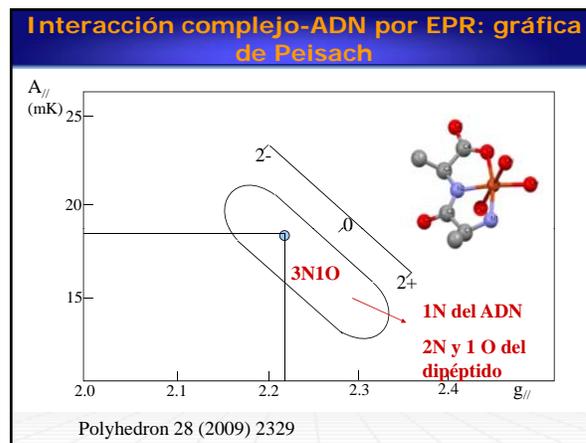
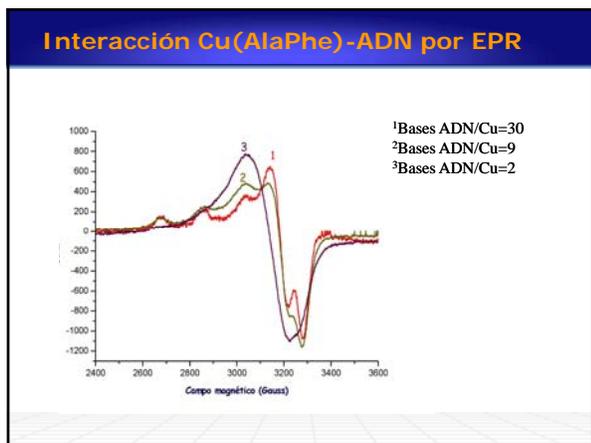
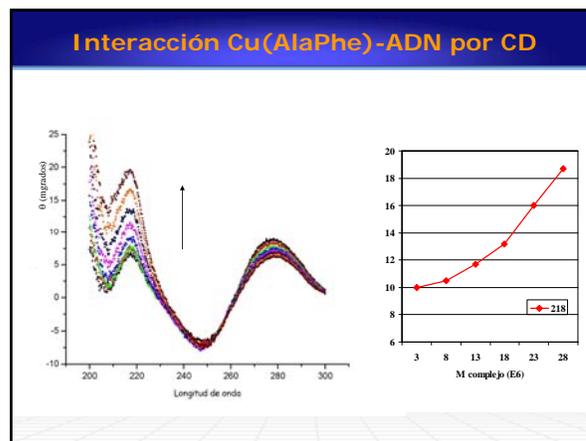
Espectros electrónicos + ecuación de Prentiss + estructura en estado sólido



Estequiometría de enlace con ADN [Cu(dipep)]/ADN

Compound	Cu/Bases	Compound	Cu/Bases
Cu(his-ala) ₂ (H ₂ O) ₂	0.0013	Cu(Phe-Ala)	0.0112
Cu(Phe-Phe)	0.0020	Cu(Ala-Ala)	0.0115
Cu(his-gly) ₂ (H ₂ O) ₂	0.0033	Cu(Phe-Leu)	0.0133
Cu(Val-Phe)	0.0083	Cu(Ala-Thr)	0.0135
Cu(Ala-Val)	0.0094	Cu(Ala-Ile)	0.0139
Cu(Val-Gly)	0.0096	Cu(Ala-Leu)	0.0200
Cu(Gly-Phe)	0.0010	Cu(Gly-Val)	0.0244
Cu(Ala-Tyr)	0.0101	Cu(Ala-Phe)	0.0417

Cu(H₂O)₆²⁺ > 0.2

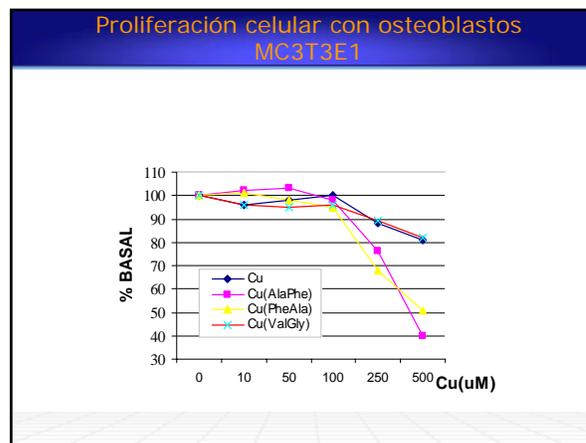


Actividad SOD mimética

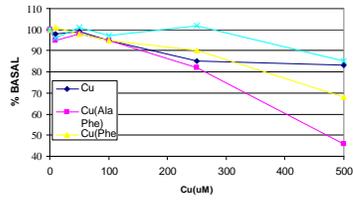
Método basado en el efecto inhibitorio de la reducción del NBT por el O₂⁻ generado por el sistema xantina/xantina oxidasa

Complex	IC ₅₀ (μM)	Complex	IC ₅₀ (μM)
Cu(Ala-Gly)	124	Cu(his-gly) ₂ (H ₂ O) ₂	50
Cu(Ala-Ile)	111	Cu(Ala-Thr)	33
Cu(Ala-Val)	79	Cu(Ala-Leu)	22
Cu(Val-Phe)	65	Cu(Ala-Tyr)	8.4
Cu(Phe-Phe)	58	Cu(Ala-Phe)	5.0

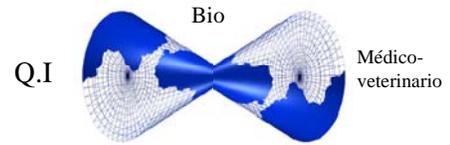
Facchin et al., Metal Ions in Biology and Medicine, Vol 7, 11, (2002)



Proliferación celular con líneas tumorales de osteosarcoma UMR106 cells



Necesidades



Nuestro grupo

- Dra. Gianella Facchin
- Q.F. Inés Viera
- Bach. Verónica Bruné
- Q.F. Eduardo Santi
- Lic. Andrea García
- Bach. Carolina Buzó
- Bach. Belén Tarallo
- Bach. Sebastián Iglesias
- Dr. en Medicina William Manzanares

Colaboradores

De Uruguay (UDELAR):

- Facultad de Química : Dra. L. Domínguez (Farmacología), J. Fuentes (Matemáticas), N. Mañay (Toxicología)
- Facultad de Veterinaria (Regional Norte): Dr. Julio Irigoyen, Dr. Teresita Porochin, Lic. Verónica Di Donato
- Facultad de Agronomía: Silvia Saldanha
- Facultad de Medicina: Dra. Silvia Chifflet y Dr. Eduardo Migliaro, E. Biestro

De Argentina:

- Dr. Enrique J. Baran
- Dra. Susana Etcheverry
- Dra. Beatriz Parajón

De Brasil:

- Dr. Alzir A. Batista
- Dra. Queico Leite
- Dra. Juliana Maldonado
- Dr. Otaciro R. Nascimento
- Dr. José Antonio Costa-Filho
- Dr. Javier Ellena